长萼兰花蕉（*Orchidantha chinensis* T. L. Wu var. *longisepala* (D. Fang) T. L. Wu）的繁育系统研究

徐凯[1,2,4]，崔长杰[1,2,4]，邹璞[1,4*]，叶育石[3]，廖景平[1,4]，匡延凤[1,4]，刘焕芳[1,4]

（1. 中国科学院华南植物园，中国科学院资源保护与可持续利用重点实验室，广州 510650；2. 中国科学院大学，北京 10049；3. 中国农业植物分子生物学研究和遗传改良重点实验室，中国科学院华南植物园，中国科学院，广州 510650；4. 广东省应用植物学重点实验室，广州 510650）

摘要：通过野外观察、杂交指数(OCI)、花粉/胚珠比（P/O）、人工授粉、等方法，对长萼兰花蕉（*Orchidantha chinensis* T. L. Wu var. *longisepala* (D. Fang) T. L. Wu）种群的繁育系统进行了研究，并采用常规石蜡切片与扫描电子显微镜（SEM）观察了柱头与“V”形黏盘的结构与形态。结果表明：该种单花花期一般为 18d，依其花部形态的变化可分为 5 个时期：（1）蕾期；（2）花萼未反转期；（3）花萼反转期；（4）唇瓣枯萎期；（5）花萼枯萎期。由于杂交指数(OCI)值为 4，P/O 值为 253.89±21.09，结合人工异花授粉结实率分别为 45%、75%，可以确定长萼兰花蕉属于异交，传粉过程需要传粉者；石蜡切片结果观察到长萼兰花蕉黏盘区与柱头可授区之间是光滑的表皮细胞，根据人工授粉实验与分泌物含糖量测定结果，表明长萼兰花蕉的“V”形黏盘不具有可授性，其作用可能是分泌粘液附着在传粉者背部使其便于携带花粉。长萼兰花蕉整个花期周围环境湿冷、多雨，且开花同步性较低，这些因素很可能造成了其有效传粉媒介的缺乏，影响了传粉成功，在有性繁殖受到限制时，通过根状茎进行的无性繁殖是其分布范围狭窄的主要原因。

关键词：长萼兰花蕉；繁育系统；黏盘；传粉；人工授粉

本文系国家自然科学基金项目（31470410，30900089）、广东省自然科学基金项目（2015A030313865）和植物园迁地栽培植物志编撰项目（2015FY210100）的研究成果之一。

作者简介：徐凯（1990-），男，硕士研究生，研究方向为传粉生物学及繁殖生物学（E-mail:kk_lh04@126.com）。

* 通讯作者：（Author for correspondence,E-mail: zoupu@scbg.ac.cn）

Breeding system of *Orchidantha chinensis* T. L. Wu var. *longisepala* (D. Fang) T. L. Wu

XU Kai[1,2], CUI Chang-jie[1,2], ZOU Pu[1*], YE Yu-shi[1], LIAO Jing-ping[1], KUANG Yan-feng[1], LIU Huan-fang[1]

(1.Key laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 10049, China; 3. Key Laboratory of South China Agricultural Plant Molecular Analysis and Genetic Improvement, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650)

Abstract: Plant flowering and breeding systems are important to understand reproduction of plant population. Field observation, outcrossing index (OCI), pollen-ovule ratio (P/O), and hand pollination were adopted to study breeding system of *Orchidantha chinensis* var. *longisepala.* Paraffin sections and Scanning electron microscope (SEM) were used to observe the structure and morphology of stigma and viscidium. The results showed that the average duration of the flowering phenology of *O. chinensis* var. *longisepala* were ca. 18days and floral development were divided into 5 stages by the flower morphology: (1) bud swelling; (2) before sepal retroflex; (3) sepal retroflex; (4) labellum withering; (5) sepal withering. The out crossing index(OCI) is 4; the P/O ratio is 253.89±21.09; the seed setting rate of cross pollination on stigma is 45%, 75%. Results of above experiments suggested that the breeding system of *O. chinesis* var. *longisepala* is xenogamy and need pollinators. The results of Paraffin sections showed that there are smooth epidermal cells between visvidium and receptive areas of stigma. According to the results of hand pollination and determination of sugar content of the secretions, it was showed that the visvidium of *O.* var. *longisepala* without receptivity. The effect of visvidium may be secrete the sticky secretion enable the pollen masses to adhere directly to the back of pollinators. It was concluded that the lack of effective pollinator due to the raw weather, the low synchrony index of flowering. The main factors of its restrictive distribution were asexual propagation with rhizomes when sexual

propagation is limitation.

Key words: *Orchidantha chinesis* var. *longisepala*；Breeding system；Visvidium；Pollination；Hand pollination

繁育系统通常的定义是代表直接影响后代遗传组成的所有有性特征[1]，主要包括花部综合特征、花各性器官的寿命、花开放式样、自交亲和程度和交配系统，它们结合传粉者和传粉行为是影响生殖后代遗传组成和适合度的主要因素，其中交配系统（mating-system）是核心[2]。交配系统在定义上严格地说是指居群个体之间的交配式样，即自交和近交状态的总和，也就是谁和谁交配及其频率。繁育系统中诸如花的开放式样、花的形态特征及花各性器官的寿命等因素，对植物的交配系统有重要影响[3]。濒危植物繁育系统的研究对于繁育生物学和生物多样性保护和管理具有重要意义[4]。

长萼兰花蕉（*Orchidantha chinensis* T. L. Wu var. *longisepala* (D. Fang) T. L. Wu）属于单子叶植物类群姜目（Zingiberales）兰花蕉科（Lowiaceae）兰花蕉属（*Orchidantha*）植物。该科仅兰花蕉属一属，迄今全世界发现该属植物约 20 种[5]，仅分布于我国南部、婆罗洲、马来西亚及中印半岛的狭窄区域内[6]。中国有 2 种 1 变种，即兰花蕉（*O.chinensis* T. L. Wu）及其变种长萼兰花蕉（*O.chinesis* var. *longisepala*）、海南兰花蕉（*O.insularis* T. L. Wu）[7]，均是我国特有种，目前仅发现于我国广西、广东和海南省内的 2-3 个县（市）域内出现，且兰花蕉已被列为中国珍稀濒危植物[8]。其中长萼兰花蕉的自然居群仅仅分布在广西省的两个县域内，分布范围非常狭窄。

到目前为止，国内外对兰花蕉科植物的研究主要集中于分类学上的处理[9-12]、系统演化地位及意义[13-17]、花序及花器官发育[18-20]、解剖学[21-26]和胚胎学[27]。崔长杰[28]等人对长萼兰花蕉气味腺结构进行了探究，在兰花蕉的繁育系统方面仅有 Sakiai & Inoue[29]对婆罗洲兰花蕉科植物进行过传粉生物学报道。本研究以特产于我国广西的长萼兰花蕉为研究对象，在结合前期分类学、结构植物学、细胞学和遗传多样性研究基础上，通过野外调查了解其分布状况，研究其繁育系统，为揭示长萼兰花蕉分布狭窄的原因提供理论依据，同时为我国兰花蕉科植物资源的有效保护及可持续利用策略提供科学的建议。

1.材料与方法

1. 1 实验材料与地点

实验材料选取我国特有的变种长萼兰花蕉（*O.chinesis* var. *longisepala*），自然居群地点为广西防城港市扶隆乡、上思县十万大山森林自然保护区，属于北热带季雨林气候区，雨量充沛，湿度大，年均气温达 22℃以上，极端高温达 39℃左右，极端低温平均为 5-7℃，1-2 月平均气温 15℃[30]；人工居群地点为华南植物园苗圃内，属于南亚热带季风湿润气候，温暖多雨，年平均气温 22℃左右，极端高温达 39. 1℃，极端低温 0℃，1-2 月平均气温 10-19℃。生境基本参数见下表：

表 1 长萼兰花蕉居群生境基本参数

Table 1 Habitat parameters of five populations of *O.chinensis* var.*longisepala*

种群编号 Numbers of population	经纬度 Longitude/Latitude	海拔 Altitude	生境 Habitat	分布 Distribution	植株数量 Number of the plants
FL1	N=21° 50. 522’ E=107° 53. 379’	533m	郁闭度 90%，公路边斜坡上，坡度 40°，湿度大	广西省防城港市扶隆乡	>100
FL2	N=21° 50. 698’ E=107° 55. 272’	324m	郁闭度 80%，溪流边斜坡上，坡度 30°-40°，湿度大	广西省防城港市扶隆乡	>100
SWDS1	N=21° 53. 742’ E=107° 54. 556’	338m	郁闭度 80%，斜坡上，坡度 45°，湿度大	广西省上思县十万大山森林自然保护区	53

SWDS2	N=21°53.638' E=107°543479'	391m	郁闭度85-90%，坡度50-70%，溪流边斜坡，湿度大	广西省上思县十万大山森林自然保护区	42
MP	N=22°50.678' E=108°24.648'	36m	郁闭度50%，湿度中等	广东省华南植物园苗圃区	15

1.2 研究方法

1.2.1 花的形态特征及结构

从选定的长萼兰花蕉种群中随机选取正在开花的50株以上植株进行观察、测量以下几方面的数值：花（芽）数/花序，花/花序着生部位，花芽长度，花序数/株，花被片长度（含唇瓣）和花被片的发育（颜色变化、大小变化）雄蕊和雌蕊等各部分长度、颜色、形状，雌雄蕊与花被片（唇瓣）的距离，花药与柱头的距离和花药开裂的方式。

1.2.2 开花物候

由于居群FL1和FL2，SWDS1和SWDS2同属于一个区域，且相距较近，所以选取其中一个种群广西扶隆乡样地FL2与十万大山样地SWDS2中50株未开放的单花进行标记，观察和记录单花和单株的开花特性：从7:00-19:00每隔两小时观察记录每一朵花的开放时间、闭合时间、（花冠）凋谢时间、柱头位置、花药开裂时间和唇瓣的形态变化，并记录每株植物每天开花数。判断花开放的标准是花萼片完全展开（图版Ⅱ：B），判断花枯萎的标准是花萼变色（由紫色变枯黄）萎蔫、质地变软（图版Ⅱ：E）。

1.2.3 杂交指数（OCI）

杂交指数OCI按照Dafni[31]的标准测量花序直径、花朵大小及开花行为，并进行繁育系统评估。

1.2.4 花粉量与胚珠比（P/O）测定

选取即将开放的长萼兰花蕉花蕾（花药未开裂）10 朵，固定于 FAA 中，带回实验室备用。取 1 朵花蕾用 HCL 水解药壁法去药壁，制成 2ml 花粉悬浮液，用移液枪吸取悬浮液在 OLYMPUS JAX70 光学显微镜下观察并统计花粉数，每朵重复 5 次，重复统计 10 个花序，计算单花花粉量及平均花粉量。同时将每朵花子房置于载玻片上在显微镜下进行解剖，观察并统计胚珠数。用单花花粉总量除以单花胚珠数，即为 P/O 比。依据 Cruden[32]的标准判断繁育系统类型。

1.2.5 花粉活性及柱头可授性检测

参照 Dafni[31]的实验方法，采用 TTC 法测定花粉活性，凡是染成红色的花粉，其生活力强，淡红的次之，无色的为不具活力的花粉或不育花粉。每次检测 5 朵花，每朵花任选 5 个视野于显微镜下计数观察，每个视野花粉数大于 100。花粉活力=（已被染红的花粉数/花粉总数）×100%。

参照 Dafni[31]的实验方法，采用联苯胺-过氧化氢法检测长萼兰花蕉柱头的可授性，采集不同时期的花各 5 朵（花蕾期到花萼枯萎），将柱头分别浸入盛有联苯胺-过氧化氢的反应板上，1% 联苯胺、3% 过氧化氢、水的体积比为 4:11:22，若柱头周围的反应呈现蓝色并伴随大量气泡出现，说明柱头可授性强；反之则说明柱头可授性弱。

1.2.6 授粉实验

在野外对长萼兰花蕉花分别设立如下几个处理：①自然对照，不做任何处理，挂牌至结实；②即将开之前去雄（切除花药），套袋；③即将开放的花去雌（切除柱头）；④开花之前套袋，开花之后人工柱头异花授粉；⑤开花之前套袋，开花之后人工“V”形黏盘异花授粉（将异花花粉涂抹在柱头下方的粘盘上，图版III: F）；⑥开花之前套袋，开花之后人工自花授粉；⑦开花之前套袋，直至花凋谢。每种处理选取 60 朵花，检测和统计结实率。

1.2.7 蔗糖浓度对花粉萌发的影响

花粉离体萌发采用 B-K 培养基，设置不同梯度的蔗糖浓度（0%，5%，15%，20%，30%，40%）。萌发时间为 4h，花粉管长度达到花粉粒直径 1/2 以上为已萌发。在 OLYMPUS JAX70 光学显微镜下进行花粉萌发率的统计花粉萌发率。

1.2.8 柱头及“V”形黏盘形态结构及分泌物含糖量测定

常规石蜡切片：取 70%FAA 固定的材料，抽气，将其转入 70%乙醇，复水

（50%乙醇，30%乙醇，蒸馏水 2 次，各级停留 30min），爱氏苏木精（2%）整体染色 36h，蒸馏水冲洗，氨水固色，乙醇逐级梯度脱水，二甲苯透明，常规石蜡包埋，切片（厚度为 8μm），中性树胶封片并于 LEICA DM5500 光学显微镜观察拍照。

扫描电镜：取经戊二醛固定的材料，用 0.1mol/L 磷酸缓冲液（pH7.2）漂洗，乙醇逐级梯度脱水，叔丁醇替换乙醇后，用 JFD-310 冷冻干燥仪干燥、粘台，再用 JFC-1600 离子溅射仪镀铂金膜，最后于 JEOL JSM-6360LV 型扫描电镜下观察、拍照。

含糖量测定：开花后第一天，用牙签分别沾取柱头及“V”形黏盘分泌物，用手持式折光仪 ATAGO MASTER-2M（30ML）直接测定分泌物含糖量。

2.结果与分析

2.1 花的形态特征及结构

长萼兰花蕉花序自根茎处生出，一般每一花序内有 1-4 个花芽，5-7 枚苞片，其中最上部苞片最大，长 5.3-6.5cm 绿色或紫色，长圆状披针形，包被花芽。萼片 3 枚，紫红色，长 13.8-15.5cm，最宽处 2.2-3.7cm，线状披针形，在盛开时向外部反转。唇瓣先端黄色，中下部颜色渐深，呈紫色，长 13.5-15.2cm，唇瓣上部最宽处宽约 1cm，先端渐狭，中部稍收缩，基部渐宽，花开放时有腐臭气味散发；侧生的 2 枚花瓣长 2.5-3.2cm，紫色，先端具芒；雄蕊 5 枚，紧贴花柱，花药长约 8mm，宽 0.1mm，纵裂，花丝短，长约 1.5-2mm；花柱长约 2cm，3 裂柱头，中间一枚裂片较为突出，先端具微齿，近轴面具“V”形粘盘，开花时能够分泌粘液。（图版Ⅰ）。

2.2 开花物候

长萼兰花蕉的开花物候在不同的年份和不同的种群间都有所变化，总体上花期为 12 月下旬至次年 2 月下旬，种群花期持续时间长，没有明显的开花高峰出现。自然种群和人工种群的种群花期之间没有明显差异，大约 55-70 天（见表 2）。

长萼兰花蕉单花花期一般为 18 天（d）。根据长萼兰花蕉花部形态学特征，可将其单花开花进程分为 5 个阶段（图版Ⅱ）：（1）花蕾期（开花前 1-2d）：花芽生长到 18~19cm 左右开始膨大，五枚雄蕊抱拢围绕在花柱管周围，此时，

唇瓣无气味散发，膨大过程持续时间约为 2d；（2）花萼未反转期（开花后 1-2d）：开花当天早上 7:30-8:30 间，3 枚花萼逐渐分离，露出唇瓣，同时开始有腐臭气味散发，“V”形粘盘湿润，分泌物明显，花药开裂，花萼保持伸长的状态约 2d；（3）花萼反转期（开花后 3-9d）：花萼慢慢反转，唇瓣挺立，气味持续散发，该段过程从开花第 3d 持续到第 9d；（4）唇瓣萎蔫期（开花后 10-16d）：之后，唇瓣逐渐出现萎蔫或发霉，由上抬的姿态逐渐萎蔫下降，气味逐渐消失，花柱管内柱头、花粉逐渐发霉变色，直至失去活性，持续到第 16d；（5）花萼枯萎期（开花后 17-18d）：第 17-18d，花萼开始萎蔫，花朵完全凋谢，单花花期结束。

表 2 长萼兰花蕉不同种群的开花物候

Table 2 Flowering phenology in different populations of *O.chinensis* var. *longisepala*

种群编号 Number of population	海拔 Altitude	始花日 Onset of flowering	终花日 Flowering termination	种群花期 Blooming period of population
FL2	324m	2013. 12. 30	2014. 2. 28	60d
		2014. 12. 15	2015. 2. 23	70d
SWDS2	391m	2013. 12. 21	2014. 2. 13	56d
		2014. 12. 26	2015. 2. 27	63d
MP	36m	2013. 12. 23	2014. 2. 19	58d
		2014. 12. 20	2015. 2. 25	67d

2. 3 杂交指数

按照 Dafni[31]的方法进行长萼兰花蕉杂交指数的测量（表 3），单花直径为 550mm-670mm，大于 6mm，记为 3；长萼兰花蕉花萼打开时，柱头湿润具有可授性，与此同时花药开裂，花粉具活性，无雌雄蕊异熟现象，记为 0；长萼兰花蕉花属于两性花，开花时柱头位置始终高于花药，记为 1；杂交指数（OCI）值为 4。按照 Dafni[31]的标准，结果显示长萼兰花蕉的繁育系统属于异交，需要传粉者（见表 3）。

表 3 长萼兰花蕉杂交指数观测结果

Table 3 The out-crossing index of *O.chinensis* var. *longisepala*

观测项目 Items of observation	花朵直径 Diameter of flower	花药散粉与柱头可授期时间间隔 Temporal reparation of anther dehiscence and stigma receptivity	柱头与花药位置 Spatial separation of anther and stigma	OCI 值 OCI value	繁育系统类型 Type of breeding-system
结果 Result	>6mm	雌雄蕊同熟	柱头高于花药	4	异交，需要传粉者

2.4 花粉量与胚珠比（P/O）测定

长萼兰花蕉单花花粉量平均为 18988.89±978.18，胚珠数平均为 75.1±4.98，其花粉/胚珠比为 253.89±21.09。按照据 Cruden[32]的标准，长萼兰花蕉属于兼性自花授粉类型（P/O=31.09~396.0）或兼性异花授粉类型（P/O=244.7~2588.0）（见表 4）

表 4 长萼兰花蕉的单花花粉量、胚珠数及花粉/胚珠比（P/O）（花朵数 N=10）

Table 4 Pollen-ovlue ratios of *O.chinensis* var. *longisepala*

	单花花粉量 Pollen grains per flower	单花胚珠数 Ovlues per flower	花粉/胚珠比 P/O ratios
均值 Mean	18988.89±978.18	75.1±4.98	253.89±21.09

2.5 花粉活性及柱头可授性检测

经 TTC 法检测发现，长萼兰花蕉在开花前一天散粉前仅有少量的花粉具活性。开花后，花粉活力高达 85%左右，一直持续至开花第六天，此时处于花萼反转期，随后花粉活力逐渐降低，花期进入唇瓣萎蔫期，开花第十二天开始花粉活

力降低显著，随后 2-3 天花萼枯萎，花粉逐渐丧失活性或发霉，花粉活力检测结果见表 5。

表 5 长萼兰花蕉花粉活性

Table 5 Pollen viability in *O.chinensis* var.*longisepala*

开花时间（d） The date of flowering	花粉活力（%） Pollen viability
1	85 ±0.12
2	82 ±0.35
4	80 ±0.20
6	89 ±0.64
8	73 ±0.17
12	59 ±0.43
14	28 ±0.32
16	20 ±0.25
17	7 ±0.09

注：表中数据为平均值±标准误

Notes: All data in the table are average value ± SE

联苯胺-过氧化氢法检测长萼兰花蕉柱头活性结果见表 6。长萼兰花蕉在蕾期已经开始分泌粘液，有微弱的过氧化物酶活性，柱头可授性弱，此时柱头呈浅紫色；刚开花即花萼反转期，颜色逐渐从浅紫转变成淡黄色，柱头开始分泌大量粘液，此时有较强的过氧化物酶活性；花萼反转期，柱头完全变为淡黄色，粘液多，可授性强；唇瓣萎蔫期，粘液分泌变少，柱头可授性减弱；花萼萎蔫期，粘液分泌停止，部分柱头霉变，丧失过氧化物酶活性，柱头无可授性，另一部分柱头萎蔫，柱头具微弱可授性。

表 6 长萼兰花蕉柱头可授性，粘液分泌情况及形态特征

Table 6 Stigma receptivity,mucus secretion and its morphology of *O.chinensis* var. *longisepala*

开花进程 Process of blooming	蕾期（花前 1-2d）	花萼未反转期（花后 1-2d）	花萼反转期（花后 3-9d）	唇瓣萎蔫期（花后 10-16d）	花萼萎蔫期（花后 17-18d）
柱头可授性 Stigma receptivity	+/-	++	++	+	-
粘液分泌 Secret mucus	++	++	++	+	+/-
柱头颜色 Stigma color	浅紫色	浅紫色/淡黄色	淡黄色	淡黄色	淡黄色/霉变

注：-，不具可授性；+/-，可授性弱；+，具可授性；++，可授性强；+/-，柱头有少量粘液分泌；+，柱头有粘液分泌；++，柱头有大量粘液分泌。

Note:-, stigmas have no reception; +/-, stigmas have lower receptivity; +, stigmas have receptivity; ++, stigmas have higher receptivity; +/-, stigmas have a little mucus; +, stigmas secret mucus; ++, stigmas secret the most mucus.

2.6 授粉实验

人工控制授粉结果显示自然对照状态下，长萼兰花蕉结果率极低，去雄去雌和粘盘授粉的处理均未见有结实现象，两年异花柱头授粉结实率分别为 45%、75%（受天气影响，2014 年果期内多有发霉腐烂的现象出现，使座果率有所降低）。结合其他处理结果，表明长萼兰花蕉只能通过异花传粉实现结实。人工授粉的实验结果见表 7。

表 7 不同授粉处理的结实率比较

Table 7 Fruit sets following experimental pollination treatments

处理 Treatment	年份 Years	处理花数 The number of flowers	结果数 Fruit set	座果率（%） Fruit set rate
自然对照	2014	60	0	0

Open pollination	2015	60	2	3.3
去雄套袋	2014	60	0	0
Anthers removed in bud	2015	60	0	0
去雌套袋	2014	60	0	0
Stigma removed in bud	2015	60	0	0
异花柱头授粉	2014	60	27	45
Experimentally outcrossed on stigma	2015	60	45	75
异花黏盘授粉	2014	60	0	0
Experimentally outcrossed on viscidium	2015	60	0	0
自花授粉	2014	60	0	0
Experimentally selfed	2015	60	0	0
不处理套袋	2014	60	0	0
Bagged flowers	2015	60	0	0

2. 7 蔗糖浓度对花粉萌发的影响

长萼兰花蕉花粉萌发最适的蔗糖浓度为 10%，花粉萌发率可达 59.45%；随着蔗糖浓度的增加，花粉萌发率逐渐降低，蔗糖浓度达 20%时，大部分花粉丧失萌发能力；30%后已完全无萌发能力，蔗糖浓度达 40%时，出现质壁分离现象。

表 8 不同浓度蔗糖溶液对花粉萌发率的影响

Table 7 The effect of different concentrations of sucrose on pollen germination

蔗糖浓度（%）	萌发率（%）

Sucrose concentration	Pollen germination rate
0	2.35
5	26.75
10	59.45
15	46.9
20	6.4
30	1.2
40	0

2.8 柱头及“V”形黏盘形态结构及分泌物含糖量测定

长萼兰花蕉为湿型柱头，3 裂，中间一枚裂片最长，1.0-1.2cm，其余两枚等长，长约 0.6cm，两侧对称（图版III: A），柱头先端具细锯齿，3 枚柱头裂片均向近轴面蜷曲，形成裂缝（图版III: G）。裂片下部合生，合生部位具“V”形白色黏盘，黏盘表面由一层单细胞长毛状腺体组织构成（图版III: H, I），腺毛长可达 200μm，腺组织上分泌许多粘液。

从柱头横切面上观察，3 枚柱头裂片近轴面为一层隆起的表皮细胞，细胞核大且着色深（图版III: A, E），柱头表皮细胞显然与其功能有密切的关系，这些隆起的细胞为一种分泌性细胞，细胞质浓，可分泌粘液，同时具有可授性（图版III: E）。“V”形黏盘由两侧裂片下方 3mm 处出现（图版III: F），往下逐渐加宽逐渐凹陷重叠，腺毛部位重叠前与柱头可授区之间是平滑的表皮细胞（图版III: B），随后，两侧柱头裂片聚合，形成中空的花柱沟（图版III: C, H），花柱沟周围是一层小的通道细胞。

分泌物含糖量测定：折光仪测量得出柱头分泌物含糖量为 10%左右，“V”形黏盘分泌物含糖量约为 30%。

3.讨论

3.1 繁育系统

长萼兰花蕉三枚萼片联合形成花萼管，五枚雄蕊紧贴花柱，雌雄蕊半包于两枚侧瓣内，与唇瓣基部相对，花粉粒大且花粉鞘多，粘性较大，同时由于花着生在近地面阴湿的环境中，因此，花粉不易受风媒散播。柱头位于花粉囊上部，雌雄蕊异位，自身的花粉不能置落到自身的柱头上，避免了自交。长萼兰花蕉花粉和柱头在花期内均保持着较高的活性与可授性，并具有同步性，且花粉在合适的蔗糖浓度中也有较高的萌发率。但其种群花期持续时间长，整个花期内，各花零星开放，每天开花数量有限，开花同步性很低，且无明显的开花高峰期，属于持续开花类型，对昆虫没有足够的吸引力，授粉实验中自然对照条件下较低的结实率也证实了这一点。根据 Danfi[31]的标准所得出的杂交指数表明，长萼兰花蕉的繁育系统属于异交，需要传粉者。按照 Cruden[32]的花粉-胚珠比（P/O）的标准花粉，其繁育系统属于兼性自花授粉类型或异花授粉类型。人工授粉结果显示其具有自交不亲和性，异花授粉具有较高的结实率。3 种实验结果得出长萼兰花蕉繁育系统基本一致，属于异花授粉类型。

兰花蕉科植物在开花时，唇瓣会散发出腐臭气味。Sakiai&Inoue[29]首次观察到兰花蕉科植物的传粉现象：*Orchidantha inouei* Nagam & S.Sakai 的传粉媒介为蜣螂类甲虫。腐臭气味招引蜣螂前来访花，蜣螂访花时，降落在唇瓣，沿唇瓣钻入花萼管，蜣螂背部首先碰触柱头，随后是“V”形黏盘，黏盘分泌的粘液使得花粉附着在甲虫背部，当蜣螂访问另一朵花时，便完成了异花传粉，在这个过程中，并未发现 *O.inouei* 提供报酬给传粉甲虫，为欺骗性传粉。温颖群和廖景平通过对兰花蕉花的解剖，发现兰花蕉蜜腺发育不健全，处于退化过程中[33]。实验表明长萼兰花蕉黏盘分泌物的含糖量较高为 30%，有可能作为回报物提供给传粉者。在野外观察中发现有蜘蛛、蓟马寄居在花萼管内，苍蝇会短暂停留在唇瓣上面，但均非有效传粉者，同时也未能观察到其他访花者在花内的行为，因此还需进一步的研究来确定长萼兰花蕉的传粉机制。野外观察还发现在长萼兰花蕉种群内，成年植株可通过粗壮的根状茎上的芽产生新的植株进行无性繁殖（图版Ⅰ：C）。与此同时，也会产生少量果实，兼具有性繁殖与无性繁殖的能力。

长萼兰花蕉花期环境湿冷、多雨，且开花同步性较低，这些因素很可能造成了长萼兰花蕉的传粉媒介比较缺乏，影响了传粉成功，自然状态下结实率非常低也说明了其缺乏有效的传粉者。调查中发现人为的砍伐、种植作物已经严重破坏

了长萼兰花蕉的生长环境，其居群及植株数量日渐减少，有趋于濒危的现象。在有性繁殖受到限制时，通过根状茎进行的无性繁殖是其分布范围狭窄的主要原因。因此，应大力加强现有的天然林的保护和扩大自然保护区的范围，减少人为破坏，保护长萼兰花蕉的生境及其传粉昆虫，增加其有性繁殖的成功率，以扩大其种群分布与规模，同时也可在适合的地区进行移栽来达到保护的目的。

3.2 “V”形黏盘

兰花蕉科柱头三裂，两侧对称，腹背分明，且两侧裂片具有分泌功能的“V”形黏盘结构，这种柱头不同于姜目植物的其他类群，为姜目中兰花蕉科所特有的结构[23]。Kirchoff & Kunze 研究了马来兰花蕉（*Orchidantha maxillarioides* (Ridl.) K.Schum.）的花发育，在花芽早期发育过程中并未有迹象证实这种特化的组织的发生，表明黏盘是在花芽发育后期出现的[20]。Pedersen & Johansen 探究了马来兰花蕉，流苏兰花蕉（*Orchidantha fimbriata* Holttum）黏盘的解剖结构：横切面上，马来兰花蕉“V”形黏盘区腺毛逐渐变短过渡到柱头可授区，并在黏盘区观察到萌发的花粉，由此推测黏盘区最早是分泌性的柱头可授区逐步发育成特化的腺毛组织，黏盘具双重功能，能够分泌黏液使花粉粘合在甲虫背部，同时又具有可授性。但在流苏兰花蕉的黏盘解剖结构发现柱头裂片未聚合前，黏盘区与柱头可授区之间为光滑的普通表皮细胞，裂片聚合之后，黏盘结构才融合，Pedersen & Johansen 认为，花粉管不能穿过普通表皮细胞到达柱头可授区，因而流苏兰花蕉黏盘不具柱头可授性功能[23]。

通过对长萼兰花蕉柱头结构的解剖观察，其“V”形黏盘结构与马来兰花蕉更为相近，黏盘区与柱头可授区之间同样是光滑的表皮细胞。人工授粉实验的结果显示异花黏盘授粉的结实率为 0；柱头与“V”形黏盘含糖量测定实验显示长萼兰花蕉柱头及黏盘分泌物含糖量分别为 10%、30%，根据花粉在不同蔗糖浓度中的萌发率结果，花粉萌发最适蔗糖浓度为 10%，萌发率达 59.45%，这与柱头分泌物含糖量一致；而蔗糖浓度为 30%的条件下，花粉萌发率极低仅为 1.2%，可见花粉在黏盘上不易萌发。

综上所述，经过几方面的实验验证，长萼兰花蕉的“V”形黏盘不具有可授性，其作用可能是分泌粘液附着在传粉者背部使其便于携带花粉。

致谢:非常感谢广西防城港市扶隆镇古宗文和张书雄两位师傅在实验过程中的大力帮助！感谢木楠、余倩霞和赵彤同学协助野外实验！感谢三位审稿人提出的宝贵意见！

参考文献：

[1]Wyatt R. Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems[J]. *Pollination Biology*, 1983: 51-95.

[2]何亚平，刘建全. 植物繁育系统研究的最新进展和评述[J]. 植物生态学报，2003，02：151-163.

He YP, Liu JQ. A review on recent advances in the studies of plant breeding system[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2003, 02: 151-163.

[3]Barrett SCH & Harder LD. Ecology and evolution of plant mating[J]. *Trends Ecol Evol*, 1996, 11:73-78.

[4]王崇云，党承林. 植物的交配系统及其进化机制与种群适应[J]. 武汉植物学研究，1999，02：163-172.

Wang CY, Dang CL. Plant mating system and its evolutionary mechanism in relation to population adaptation[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1999, 02:163-172.

[5]Leong-Škorničková J. *Orchidantha lengguanii*(Lowiaceae), a new species from Peninsular Malaysia, and typification of *O.maxillarioides*[J]. *Gard Bull Sin*, 2014, 66(1): 15-25.

[6]Larsen K. The families and genera of vascular plants[J]. *Springer*, 1998, 04: 275-277.

[7]Zou P, Ye YS, Cai XA, Liao JP. Rediscovery and improved description of *Orchidantha insularis* (Lowiaceae), a rare species from Hainan,China[J]. *Nord J Bot*, 2014, 32(6): 819-823.

[8]傅立国，中国珍稀濒危植物[M].上海：上海教育出版社，1989：234.

Fu LG, Rare and endangered plants in china[M]. Shanghai: Shanghai Educational Publishing House, 1989: 234.

[9]Hutchinson J. The families of flowering plants[M]. Vol.2, Monocotyledons. London: Macmillan, 1934

[10]Hutchinson J. The families of flowering plants[M]. 2nd ed, Vol.2, Monocotyledons. Oxford: Clarendon Press, 1959.

[11]Nakai T. Notulae ad Plants Asiae Orientalis(XVI)[J]. *J Jap Bot,* 1941, 17: 189-210.

[12]Tomlinson PB. Phylogeny of the Scitaminae-morphological and anatomical considerations[J]. *Evolution*, 1962, 16: 192-213.jj

[13]Smith JF, Kress WJ & Zimmer EA. Phylogenetic analysis of the Zingiberales based on rbcL sequences[J]. *Ann Mo Bot Gard*, 1993, 80: 620-630.

[14]Kress WJ. Phylogeny of the Zingiberanae: morphology and molecules[M]. Monocotyledons: systematics and evolution.LonDon: Royal Botanic Gardens, Kew. 1995: 443-460.

[15]Kress WJ, Prince LM, Hahn WJ & Zimmer EA. Unraveling the evolutionary radiation of the families of the Zingiberales using morphological and molecular evidence[J]. *Systematic Biology*, 2001, 50: 926-944.

[16]Soltis DE, Soltis PS, Chase MW, Mort ME, Albach DC, Zanis M, Savolainen V, Hahn WH, Hoot SB, Fay MF, Axtell M, Swensen SM, Prince LM, Kress WJ, Nixon KC&Farris JS. Angiosperm phylogeny inferred from 18SrDNA,rbcL and atpB sequences[J]. *Bot J Linn Soc*, 2000, 133: 381-461.

[17]Johansen LB. Phylogeny of Orchidantha (Lowiaceae) and the Zingiberales based on six DNA regions[J]. *Systematic Botany*, 2005, 30(1): 106-117.

[18]Keng H. Notes on the flowers of Orchidantha longiflora[J]. *Gard Bull Sin*, 1969, 24: 347-349.

[19]Kunze H. Infloreszenz-und Bliitenmorphologie von Orchidantha maxillarioides(Ridl.)K. Schumn. (Lowiaceae)[J]. *Beitr Biol Pfla*, 1986, 61: 221-234.

[20]Kirchoff BK & Kunze H. Inflorescence and floral development in Orchidantha maxillarioides(Lowiaceae)[J]. *Int J Plant SCI*, 1995, 156: 159-171.

[21]Tomlinson PB. An anatomical approach to the classification of the Musaceae[J]. *Bot J Linn Soc*, 1959, 55: 779-808.

[22]Tomlinson PB. Commelinales-Zingiberales. (Anatomy of the monocotyledons). III[M]. Clarendon Press, Oxford, UK. 1969.

[23]Pedersen LB & Johansen B. Anatomy of the unusual stigma in Orchidantha(Lowiaceae)[J]. *Am J Bot*, 2004, 91(3): 299-305.

[24]温颖群，廖景平，吴七根. 兰花蕉种子的解剖学和组织化学研究[J]. 广西植物, 1997, 03: 44-50.

Wen YQ, Liao JP, Wu QG. Anatomy and histochemistry of the seed of *orchidantha chinensis* T. L. Wu[J]. *Guihaia*, 1997, 03: 44-50.

[25]温颖群，廖景平. 兰花蕉花的形态解剖学[J]. 热带亚热带植物学报, 1999, 04: 329-336.

Wen YQ, Liao JP. Floral morphology and anatomy of *orchidantha chinensis* (Lowiaceae)[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 1999, 04:329-336.

[26]廖景平，温颖群，吴七根. 兰花蕉花部维管束系统的解剖学研究[J]. 热带亚热带植物学报，1998，04: 275-282.

Liao JP, Wen YQ, Wu QG. Studies on vascular system anatomy of the flower of *orchidantha chinensis* T. L. Wu[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany,* 1998, 04: 275-282.

[27]温颖群，廖景平. 兰花蕉的胚胎学研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2001, 04: 301-305+370-371.

Wen YQ, Liao JP. Embryological study on *orchidantha chinensis* (Lowiaceae)[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany,* 2001, 04: 301-305+370-371.

[28]崔长杰, 邹璞, 廖景平. 长萼兰花蕉(*Orchidantha chinensis* var. *longisepala*)气味腺结构探究[J]. 植物科学学报, 2015, 05: 602-607.

Cui CJ, Zou P, Liao JP. Structural analysis of the *Orchidantha chinensis* var. *Longisepala*[J]. *Plant Science Journal*, 2015, 05: 602-607.

[29]Sakai S, Inoue T. A new pollination system: dung-beetle pollination discovered in *Orchidantha inouei* (Lowiaceae, Zingiberales) in Sarawak, Malaysia[J]. *Am J Bot*, 1999, 86(1): 56-61.

[30]覃勇荣. 十万大山植物区系的初步研究[J]. 河池师专学报(理科),1997,(02):42-54.

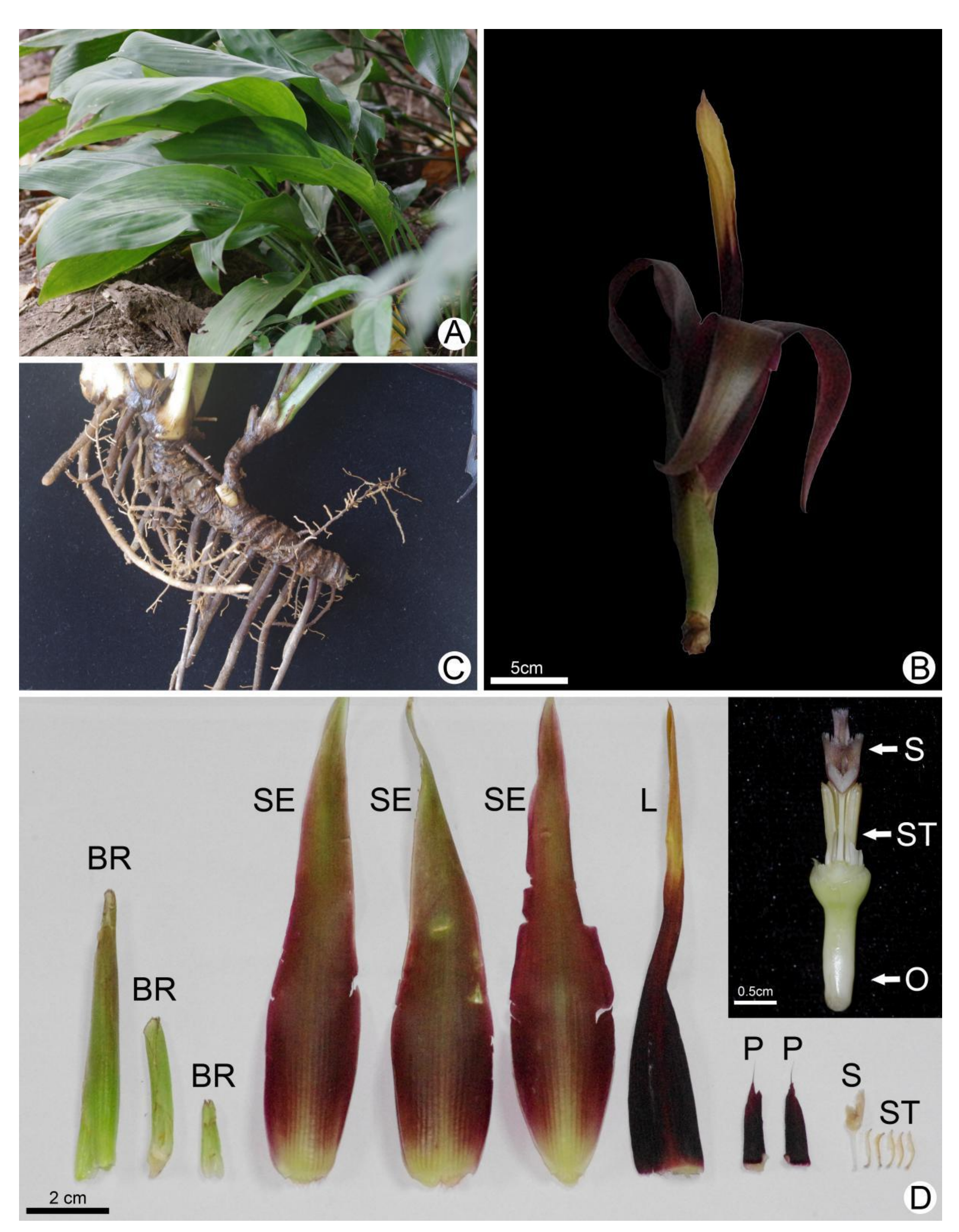
Qin YR. A preliminary study on plant flora of Shiwandashan Mountain[J]. *Journal of Hechi teachers college*, 1997, 02:42-54.

[31]Dafni A. Pollination Ecology[M]. *Oxford University Press*, New York. 1992.

[32]Cruden RW. Pollen-ovule ratio: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants[J]. *Evolution*, 1977, 35: 1-6.

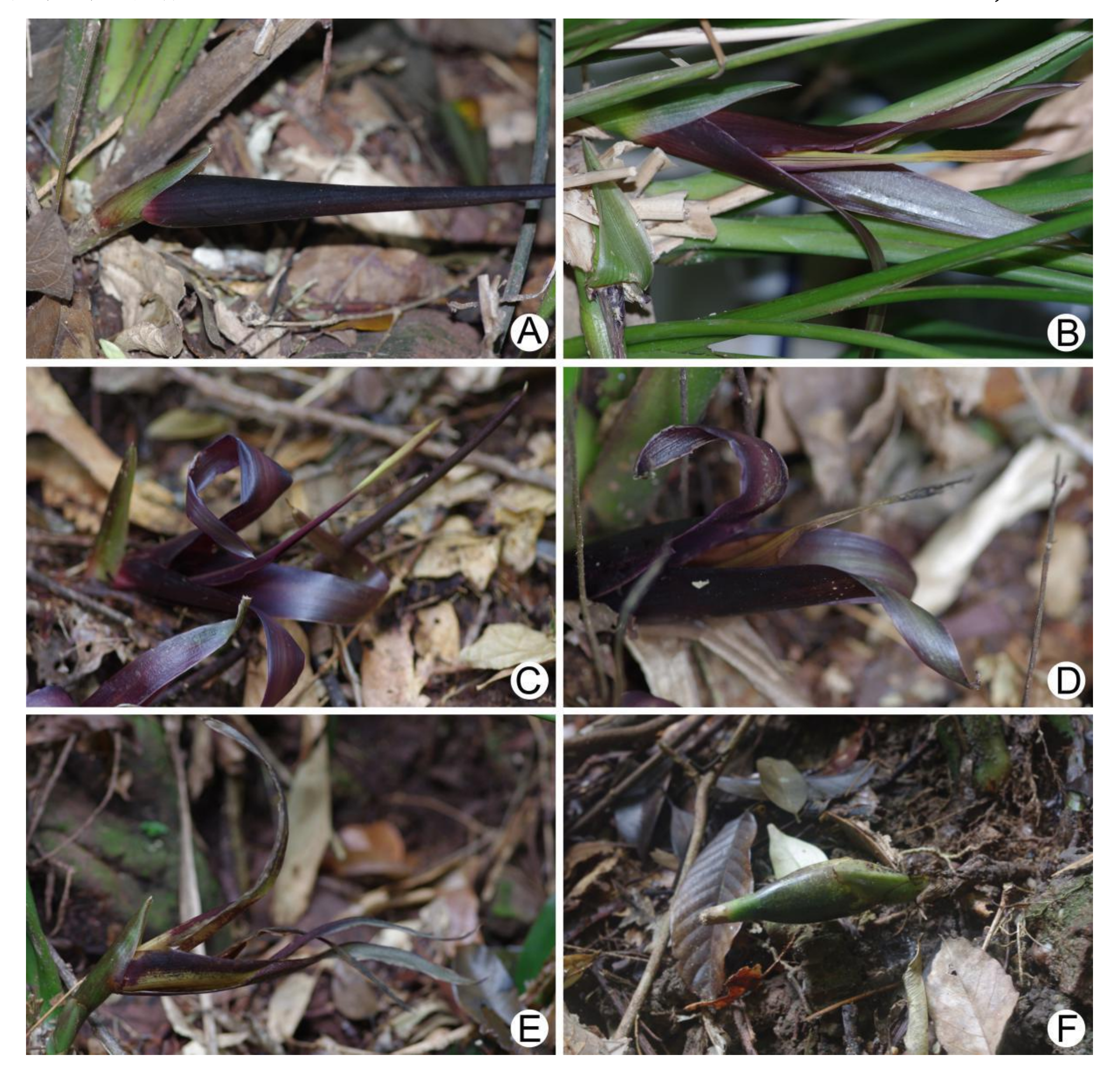
[33]温颖群,廖景平. 兰花蕉花的形态解剖学[J]. 热带亚热带植物学报,1999,(04):329-336.

Wen YQ, Liao JP. Floral morphology and anatomy of *Orchidantha chinensis*(Lowiaceae)[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 1999, (04):329-336.



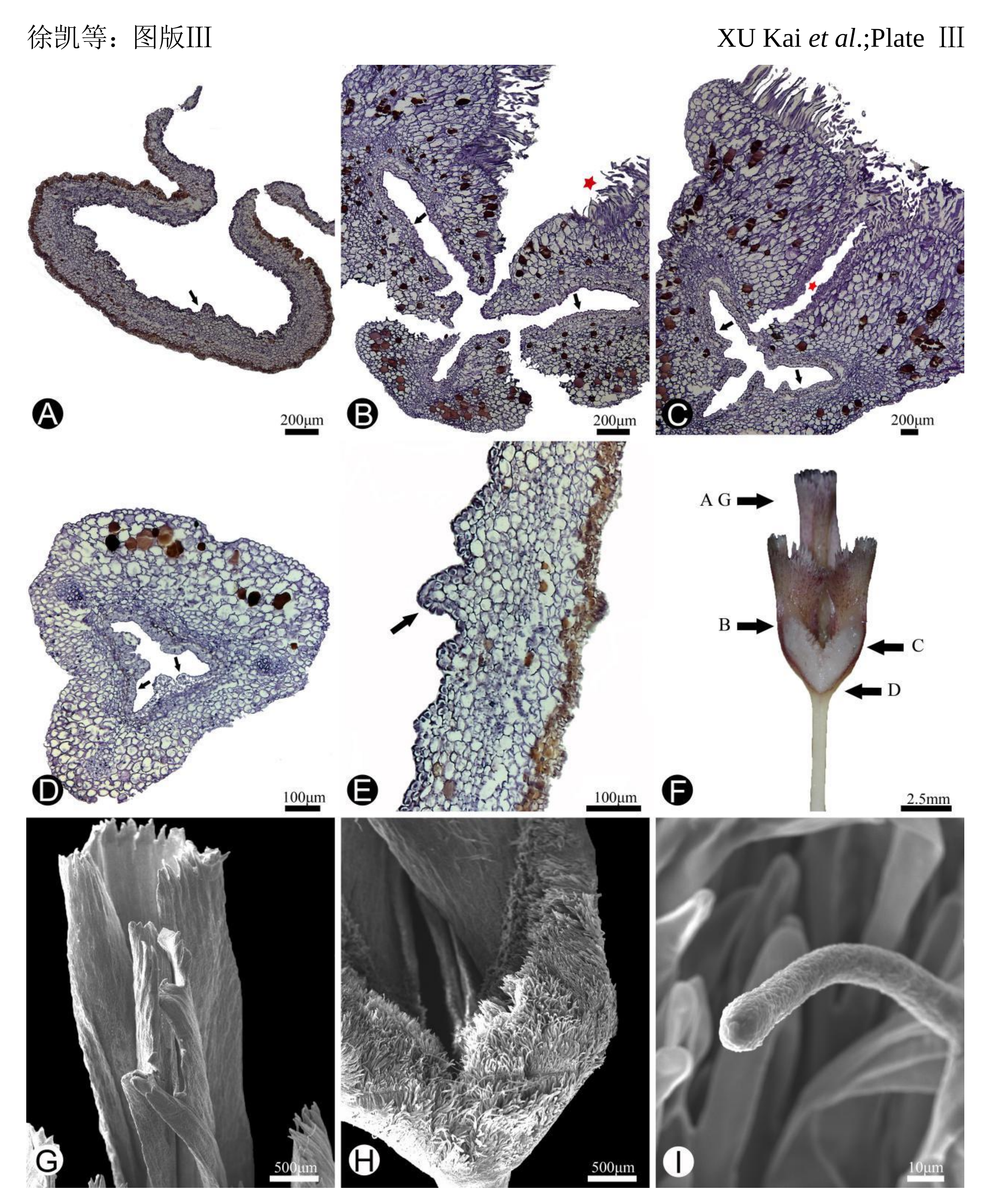
长萼兰花蕉生境及形态特征。A：长萼兰花蕉植株形态；B：长萼兰花蕉花形态；C：长萼兰花蕉根状茎形态；D：长萼兰花蕉花部解剖图（BR 为苞片；SE 为萼片；L 为唇瓣；P 为花瓣；S 为柱头；ST 为雄蕊；O 为子房）。

Habitat and the morphology of *O.chinensis* var. *Longisepala*. A: Plant morphology; B:Flower morphology ; C: Rhizomes morphology; D: Flower dissection（T：Tepal；SE：Sepal；L：Labellum；P：Petal；S：Stigma；ST：Stamens；O：Ovary）.



长萼兰花蕉花朵 5 个开花进程的形态。A：长萼兰花蕉花蕾期；B：花萼未反转期；C：花萼反转期；D：唇瓣枯萎期；E：花萼萎蔫期；F：幼果

The morphology of flower of *O.chinensis* var. *Longisepala* 5 developmental stages. A: Bud swelling; B: Before sepal retroflex; C: Sepal retroflex; D: Labellum withering; E: Sepal withering; F: The young fruit.



柱头横切面及“V”形黏盘扫描电镜图。A：最长柱头裂片顶端横切面，近轴面着色深的表皮细胞为分泌性可授细胞；B：柱头裂片聚拢，“V”形黏盘逐渐扩大；C：裂片聚合，“V”形黏盘重叠；D：柱头基部，花柱沟可见；E：柱头近轴面可授性分泌表皮细胞；F：柱头近轴面，可见白色“V”形黏盘，箭头所指为大致的横切面；G：最长柱头裂片形态；H：黏盘扫描电镜图；I：黏盘腺毛扫描电镜图。红色星状图标所示为黏盘区域，黑色箭头所示为柱头可授区。

Transverse sections through the *Orchidantha chinensis* var. l*ongisapala* stigma, and scanning electron micrograph of the viscidium. A: Section through the apical parts of the longest stigmatic lobe, the dark epidermis on the

adaxial side is secreting and receptive; B: Section through the area where the three lobes join, the viscidium become widen; C: Section through the area where the three lobes joining together, the trichome area overlaped; D: At the base of the stigma, stylar canal appears; E: The receptive cells of the stigma; F: Micrograph of *O.chinensis* var. *longisepala* seen from the adxial side. The large bright viscidium structure at the base of the stigma. Black arrows with letters indicate the approximate of anatomical sections illustrated in corresponding letters; G: The morphology of the longest stigma lobe; H: Scanning electron micrograph of *O.chinensis* var. *longisepala* viscidium; I: Scanning electron micrograph of the trichomes. The stars show the viscidium area, the arrows show the receptive tissues.